

### 3. BAHAN DAN METODE

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di desa Ketawang, kecamatan Gondanglegi, kabupaten Malang pada ketinggian tempat  $\pm$  359 mdpl, suhu 25°C dan kelembaban udara sekitar 90%. Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Februari - Mei 2014.

#### 3.2 Bahan dan Alat

Alat yang digunakan adalah sangkar plastik, gunting, cangkul, patok, label, gembor, alat tulis dan alat ukur. Bahan tanaman yang digunakan terdiri dari 10 genotip padi merah dengan 2 varietas pembanding (Tabel 1). Satu set varietas diferensial yang digunakan untuk menentukan ras cendawan *Pyricularia oryzae*. Pupuk yang digunakan adalah Urea (45% N), SP-36 (36% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) dan KCl (60% K<sub>2</sub>O).

Tabel 1. Genotip Padi Merah dan Varietas Pembanding yang Digunakan

No.	Genotip	Daerah Asal
1.	INPAGO 7 (Cek Tahan)	Unggul Nasional
2.	Ciherang (Cek Rentan)	Unggul Nasional
3.	Cendana	Tabanan-Bali
4.	Slegreng	DI. Yogyakarta
5.	Mandel	DI. Yogyakarta
6.	Lokal Temanggung	Temanggung-Jawa Tengah
7.	Lokal Malang	Malang-Jawa Timur
8.	Marahmay	BB Padi Sukamandi-Subang
9.	Rogol	BB Padi Sukamandi-Subang
10.	Sata Asa	BB Padi Sukamandi-Subang
11.	Jimbruk Joloworo	BB Padi Sukamandi-Subang
12.	Yaiti	BB Padi Sukamandi-Subang

#### 3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) sederhana dengan perlakuan 10 genotip padi merah lokal dan 2 varietas pembanding yang diulang sebanyak tiga kali sehingga terdapat 36 satuan percobaan. Data dianalisis dengan RAK dan apabila terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan, selanjutnya dilakukan uji BNJ (Beda Nyata Jujur) dengan taraf nyata 5%.

### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.4.1 Percobaan Pendahuluan Pengujian Ras Penyakit Blas

Cendawan *Pyricularia oryzae* sebagai penyebab penyakit blas memiliki keragaman genetik yang tinggi. Setiap individu *Pyricularia oryzae* memiliki sifat virulensi yang berbeda, tergantung dari sifat ketahanan dari tanaman inang. Pengamatan terhadap populasi ras penyakit blas telah dilakukan sejak tahun 1970 sampai sekarang secara konvensional dengan menggunakan 1 set varietas diferensial yang masing-masing varietas mampu membedakan patogenitas isolat yang dideteksi dengan nilai penentu ras yang dimiliki. Tujuh varietas diferensial yang digunakan di Indonesia untuk menentukan ras penyakit blas adalah : Asahan dengan nilai penentu ras 200, Cisokan dengan nilai penentu ras 100, IR-64 nilai penentu ras 40, Krueng Aceh nilai penentu ras 20, Cisadane nilai penentu ras 10, Cisanggarung nilai penentu ras 2, dan Kencana Bali nilai penentu ras 1.

Metode yang digunakan untuk menentukan ras penyakit blas berdasarkan dari metode yang digunakan oleh Balai Besar Tanaman Padi (BB Padi) dengan cara menanam satu (1) set varietas diferensial secara berurutan mulai dari Asahan, Cisokan, IR-64, Krueng Aceh, Cisadane, Cisanggarung, dan Kencana Bali pada setiap bedengan. Jarak tanam yang digunakan untuk varietas diferensial, disesuaikan dengan prosedur pengujian blas dari IRRI (2006) yaitu sebesar 10 cm untuk jarak antar varietas diferensial. Pengamatan dan skoring dilakukan ketika varietas diferensial telah terinfeksi oleh penyakit blas. Kriteria skoring untuk menentukan ras penyakit blas yang digunakan adalah sebagai berikut, skor 1-3 adalah varietas yang termasuk dalam kriteria tahan dan skor 4-8 adalah varietas yang masuk kriteria rentan. Ras penyakit blas yang menyerang pada lahan penelitian dapat diketahui dengan menjumlahkan skor patogenitas dari masing-masing varietas diferensial yang masuk dalam kriteria rentan (skor 4-8).

#### 3.4.2 Tanam dan Metode Inokulasi Blas Daun

Metode inokulasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode inokulasi alami dengan cara menanam tanaman rentan (*spreader*) mengelilingi bedengan dengan tujuan menarik dan mengumpulkan ras blas yang berkembang di lokasi penelitian. Varietas yang digunakan sebagai *spreader* adalah varietas Ciherang.

Penanaman *spreader* dilakukan 7-10 hari lebih awal sebelum genotip yang diuji ditanam. Sebelum ditanam, *spreader* direndam dengan air selama 1 x 24 jam untuk memecah masa dormansinya. *Spreader* ditanam pada bagian pinggir dan mengelilingi bedengan. *Spreader* ditanam sebanyak 3 baris mengelilingi bedengan sesuai dengan prosedur pengujian blas dari IRRI (2006). Setelah penanaman *spreader*, 7-10 hari kemudian dilakukan penanaman genotip yang diuji beserta cek rentan (Ciherang) dan cek tahan (INPAGO 7) pada bagian tengah bedengan. Sesuai dengan prosedur pengujian blas dari IRRI (2006), tiap genotip yang diuji ditanam dalam 1 baris.

### 3.4.3 Persiapan Lahan

Pelaksanaan penelitian diawali dengan menyiapkan lahan tanam dengan melakukan pengolahan tanah dengan menggunakan cangkul. Tanah yang telah digemburkan selanjutnya dibuat menjadi bedengan seluas 2 meter x 1 meter. Bedengan kemudian diatur jarak antar bedengannya sebesar 50 cm. Jarak bagian tepi bedengan dengan *spreader* (tanaman rentan) sebesar 10 cm dan ketebalan tanaman *spreader* adalah 15 cm. Sebagai tanaman *spreader* digunakan varietas Ciherang. Tanaman *spreader* ditanam dalam tiga baris pada tiap sisi bedengan. Pada bagian tengah bedengan digunakan untuk menanam genotip padi merah yang diuji. Jarak antara genotip yang diuji dengan tanaman *spreader* dibuat sebesar 5 cm dengan tujuan membuat lingkungan ideal untuk perkembangan cendawan *Pyricularia oryzae* Cav. Jarak antar genotip yang diuji adalah 10 cm, sesuai dengan prosedur pengujian blas dari IRRI (2006). Genotip-genotip padi merah yang diuji ditandai dengan patok dan label yang telah diisi dengan identitas genotip padi merah yang diuji.

### 3.4.4 Pemeliharaan

Pemeliharaan tanaman dilakukan dengan melakukan pemupukan dan penyiraman. Pemupukan pada tanaman uji dilakukan dengan menggunakan 300 kg urea ha<sup>-1</sup> + 75 kg SP-36 ha<sup>-1</sup> + 50 kg KCl ha<sup>-1</sup>. Aplikasi pupuk dilakukan sebanyak dua kali, masing-masing setengah bagian diberikan satu minggu setelah genotip yang diuji ditanam dan tiga minggu setelah genotip uji ditanam. Pupuk diberikan dengan cara dilarik diantara barisan tanaman.

Penyiraman dilakukan 2-3 kali setiap hari selama masa pertumbuhan. Tujuan dilakukannya penyiraman selain untuk pertumbuhan tanaman juga dilakukan untuk menjaga kelembaban dari lokasi penelitian sehingga perkembangan cendawan *Pyricularia oryzae* Cav dapat terjadi secara optimal. Selain penyiraman, untuk menjaga kelembaban bedengan di malam hari juga dapat dilakukan dengan menggunakan sangkar plastik. Penggunaan sangkar plastik biasanya dilakukan tiap sore hari dan dibuka.

### 3.5 Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada semua rumpun tanaman, dari minggu pertama setelah penanaman genotip yang diuji. Parameter yang diamati ialah:

#### 1. Periode Laten

Periode laten adalah waktu yang dibutuhkan oleh suatu patogen untuk menampakkan suatu gejala serangan. Parameter ini diamati sejak tanaman berumur 9 hari setelah genotip uji ditanam sampai munculnya gejala bercak pada permukaan daun tanaman padi.

#### 2. Jumlah Bercak Berspora

Bercak berspora ditandai dengan bercak yang berdiameter lebih dari 3 mm dan pusat bercak berwarna abu-abu. Jumlah bercak berspora dihitung pada tiga daun teratas untuk setiap rumpun tanaman yang diuji. Parameter bercak berspora diamati pada saat bersamaan dengan pengamatan periode laten.

#### 3. Jumlah Bercak Tidak Berspora

Gejala penyakit blas berupa bercak tidak berspora ditandai dengan adanya brown spot dengan diameter kurang 3 mm. Jumlah bercak tidak berspora dihitung pada tiga daun teratas untuk setiap rumpun, diamati pada saat bersamaan dengan pengamatan periode laten.

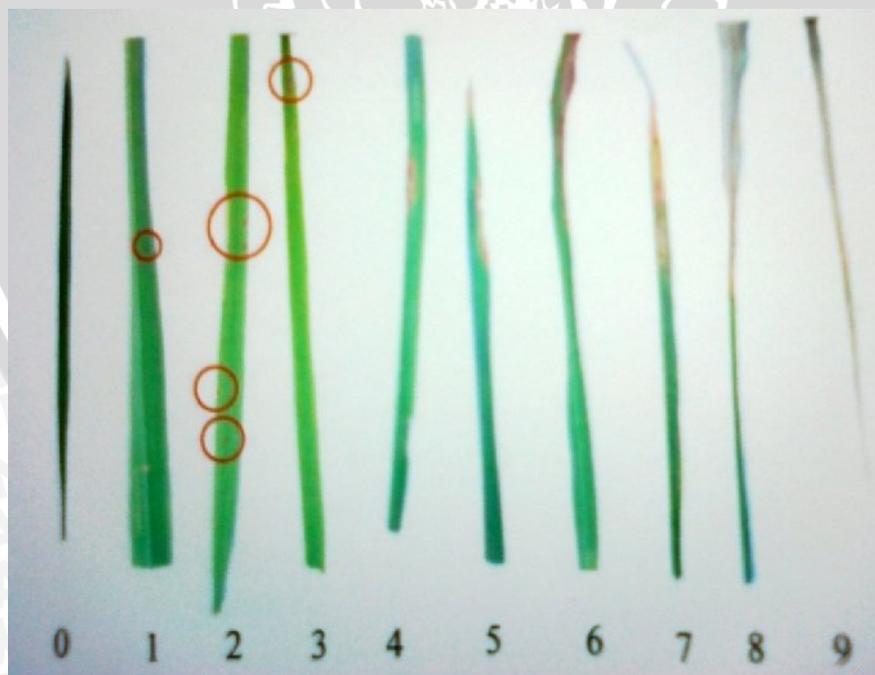
#### 4. Skor Tingkat Ketahanan Penyakit

Setiap rumpun tanaman uji diamati tingkat kerusakan daunnya dan diberi skor. Skor penyakit diamati tiap minggu mulai dari saat tanaman yang diuji berumur 30 hst, 37 hst, 44 hst, 51 hst dan 58 hst. Dasar dari pengamatan ini mengacu pada pernyataan Semangun (2008) bahwa pada saat tanaman padi

berumur 55 hari (tahap pemanjangan batang) merupakan masa padi paling rentan terhadap serangan cendawan *Pyricularia oryzae* Cav. Penentuan skala serangan penyakit blas daun berdasarkan pada Standard Evaluation System For Rice (IRRI,1996) sebagai berikut :

Tabel 2. Skor Kerusakan Daun dan Klasifikasi Ketahanan Tanaman Padi akibat Serangan Penyakit Blas

Skor	Kerusakan Daun	Klasifikasi
0	Tidak ada gejala serangan	Sangat Tahan
1	Bercak sebesar ujung jarum	Sangat Tahan
2	Bercak lebih besar dari ujung jarum	Tahan
3	Bercak nekrotik, abu-abu, bundar, sedikit memanjang, panjang 1-2 mm, tepi coklat	Agak Tahan
4	Bercak khas blas (belah ketupat) panjang 1-2 mm luas daun terserang kurang dari 2%	Moderat
5	Bercak khas blas, luas daun terserang 2-10%	Moderat
6	Bercak khas blas, luas daun terserang 11-25%	Agak Rentan
7	Bercak khas blas, luas daun terserang 26-50%	Rentan
8	Bercak khas blas, luas daun terserang 51-75%, beberapa daun mulai mati	Sangat Rentan
9	Semua daun mati	Sangat Rentan



Gambar 3. Tingkat kerusakan daun dan skor pada tiap kerusakan daun akibat cendawan *Pyricularia oryzae* Cav.

(Lesmana, 2012)

### 5. Intensitas Serangan Penyakit

Intensitas serangan adalah kemampuan menyerang patogen dalam suatu populasi tanaman, dihitung dengan menggunakan rumus dari IRRI (1996) :

$$IS = \frac{\sum v}{\sum N} \times 100\%$$

Keterangan: IS : Intensitas serangan penyakit blas

n : Jumlah rumpun yang terkena blas daun

v : Nilai skor serangan tiap rumpun

N : Jumlah tanaman dari semua rumpun yang diamati

V : Nilai skor serangan blas daun tertinggi

Suatu genotipe dikatakan tahan terhadap penyakit blas daun apabila memiliki persentase serangan  $0 \leq 25\%$  dan dikatakan rentan apabila memiliki persentase serangan  $> 25\%$  (IRRI, 1996).

### 3.6 Analisis Data

Data kuantitatif dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA) pada taraf 5%. Apabila hasil pengujian menunjukkan pengaruh yang nyata, dilakukan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf 5%. Uji analisis sidik ragam (ANOVA) menurut Singh and Chaudhary (1979) adalah sebagai berikut:

Tabel 3. Analisis Varian (ANOVA) Rancangan Acak Kelompok (RAK).

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	KTH	F hit
Kelompok	r-1	JK <sub>r</sub>	KT <sub>r</sub> (M3)	$\sigma_e^2 + t \sigma_r^2$	KT <sub>r</sub> /KTe
Genotip	g-1	JK <sub>g</sub>	KT <sub>g</sub> (M2)	$\sigma_e^2 + r \sigma_g^2$	KT <sub>g</sub> /KTe
Galat	(g-1)(r-1)	JK <sub>e</sub>	KTe (M1)	$\sigma_e^2$	
Total	gr-1	JK <sub>t</sub>			

Keterangan: (r) ulangan; (g) genotip; (JK) Jumlah Kuadrat; KT (Kuadrat Tengah); (KTH) Kuadrat Tengah Harapan

Setelah mendapatkan nilai analisis ragam, maka nilai varian fenotip, genetik dan lingkungan dapat dihitung.

$$\sigma^2_p = \sigma^2_g + \sigma^2_e$$

$$\sigma^2_g = \frac{KT_g}{r} - \sigma_e^2$$

Keterangan:

$\sigma^2e$  = varian lingkungan;  $\sigma^2g$  = varian genetik;  $\sigma^2p$  = varian fenotip

Setelah mendapatkan nilai dari varian genotip, varian fenotip dan varian lingkungan selanjutnya dapat dihitung nilai heritabilitas dari masing-masing perlakuan pada karakter yang diamati. Nilai heritabilitas yang dihitung adalah nilai heritabilitas arti luas. Heritabilitas arti luas merupakan gambaran besarnya kontribusi genetik untuk suatu karakter yang terlihat dilapangan, dan dijadikan sebagai ukuran mudahnya suatu karakter untuk dimodifikasi. Metode yang digunakan untuk menduga nilai heritabilitas arti luas dan komponen ragam pada percobaan ini adalah partisi ragam dari rancangan acak kelompok.

Pada karakter yang memiliki nilai heritabilitas arti luas tinggi, seleksi akan berlangsung efektif karena pengaruh lingkungan sangat kecil, sehingga faktor genetik lebih dominan dalam penampilan fenotipe tanaman. Menurut Marquez-Ortiz *et al.*, (1999) program seleksi dari suatu karakter akan efektif apabila nilai heritabilitasnya tinggi. Nilai heritabilitas ( $h^2$ ) menurut Poespodarsono (1998) dapat ditentukan dengan menggunakan metode sebagai berikut:

$$h^2 = \frac{\sigma^2g}{\sigma^2p}; \quad \sigma^2g = \frac{KTg}{r}; \quad \sigma^2p = \sigma^2g + \sigma^2e$$

Keterangan:  $h^2$  = heritabilitas arti luas  
 $\sigma^2g$  = varian genotip  
 $\sigma^2p$  = varian fenotip  
 $\sigma^2e$  = varian lingkungan  
 KTg = kuadrat tengah genotip  
 KTe = kuadrat tengah galat  
 r = ulangan

Nilai heritabilitas ( $h^2$ ) dapat diklasifikasikan menjadi tiga klasifikasi menurut Poespodarsono (1998) yaitu:

Rendah :  $h^2_{bs} < 0,20$   
 Sedang :  $0,20 < h^2_{bs} \leq 0,50$   
 Tinggi :  $0,50 < h^2_{bs} \leq 1,00$

Setelah mendapatkan nilai heritabilitas, dilanjutkan dengan menghitung nilai koefisien keragaman. Menghitung nilai koefisien keragaman untuk dapat membandingkan tingkat keragaman antar perlakuan yang diamati dalam genotip. Murdaningsih *et al.*, (1991) menyatakan bahwa seleksi akan efektif apabila nilai kemajuan genetik ditunjang oleh salah satu nilai KKG dan  $h^2$  yang tinggi. Nilai KKG yang tinggi menunjukkan adanya keragaman genetik yang tinggi. Menurut Rachmadi *et al.*, (1990) semakin tinggi nilai KKG maka usaha-usaha perbaikan melalui seleksi akan efektif dan akan meningkatkan keleluasaan dalam pemilihan genotip-genotip yang diinginkan. Nilai Koefisien Keragaman Genetik (KKG) ditentukan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$KKG = \frac{\sigma^2_g}{\bar{x}} \times 100 \%$$

Keterangan:

KKG = Koefisien Keragaman Genetik  
 $\sigma^2_g$  = ragam genotip  
 $\bar{x}$  = rata-rata umum

Nilai KKG diklasifikasikan ke dalam empat kategori (Moedjiono dan Mejaya, 1994) yaitu:

Rendah :  $0 \% < x \leq 25 \%$   
 Agak Rendah :  $25 \% < x \leq 50 \%$   
 Cukup Tinggi :  $50 \% < x \leq 75 \%$   
 Tinggi :  $75 \% < x \leq 100 \%$